



DEUTSCHES
PATENTAMT

② Offenlegungsschrift
③ DE 30 38 047 A 1

AGIL 25/00

④ Int. Cl. 3:

~~A 01 K 33/42~~

C 01 B 25/32

- ⑦ Aktenzeichen:
⑧ Anmeldetag:
⑨ Offenlegungstermin:

P 30 38 047.3-41
8. 10. 80
9. 4. 81

⑩ Unionspriorität: ⑪ ⑫ ⑬

08.10.79 JP P128821-79

⑭ Anmelder:

Mitsubishi Mining & Cement Co. Ltd., Tokyo, JP

⑮ Vertreter:

von Föner, A., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Strahl, P., Dipl.-Ing.
Dipl.-Wirtsch.-Ing.; Schöbel-Hopf, U., Dipl.-Chem.
Dr.rer.nat.; Ebbinghaus, D., Dipl.-Ing.; Finck, K., Dipl.-Ing.
Dr.-Ing., Pat.-Anw., 8000 München

⑯ Erfinder:

Niwa, Shigeo, Aichi, JP; Sawai, Kazuhiko, Nagoya, Aichi,
JP; Tagai, Hideo, Tokyo, JP; Ono, Mikiya; Fukuda,
Yoshiaki; Takeuchi, Hiroyasu, Yokose, Saitama, JP

△ 2063 2063 2063
U 5 4 4 2 9 6 3 1

DE 30 38 047 A 1

⑰ Füllmaterial

Bitte Eingabe

DE3038047

Ihre Frage

DE 3038047

Familienmitglied

CC	PUBDAT	KD	DOC.NO.	CC	PR.DAT	AKP	YY	PR.	NO.
DE	810409	A1	3038047	DE	801008	AA	80	3038047	
DE	841004	C2	3038047						
FR	810417	A1	2466983	JP	791008	PA	79	128821	
FR	851031	B1	2466983						
GB	810610	A1	2063841						
GB	830928	B2	2063841						
JP	810515	A2	56054841						
JP	880829	B4	63043106						
NL	810410	A	8005542						
US	840207	A	4429691						
US	850205	A	4497075						

11 MITGL.

6 LAENDER

DE 30 38 047 A 1

BESCHREIBUNG

=====

Die Erfindung betrifft allgemein ein Material für medizinische Zwecke und speziell ein anorganisches Füllmaterial, das zum Füllen von Defekten oder Hohlräumen in den Knochen des lebenden Körpers dient, die durch Operationen zur Entfernung eines Knochentumors oder durch andere Ursachen gebildet wurden, wobei die Bildung von neuem Knochengewebe in den gefüllten Bereichen gefördert wird und das Füllmaterial mit dem Knochengewebe verwachsen ist, nachdem die verletzten Bereiche vollständig ausgeheilt sind.

Auf dem Gebiet der Chirurgie oder Orthopädie begegnet man häufig der Bildung von Knochendefekten oder Hohlräumen in Knochen durch hochkomplizierte Brüche oder durch Operationen zur Entfernung eines Knochentumors und diese Defekte oder Hohlräume müssen durch Verwachsung geholt werden. Nach einer bekannten Methode wird ein gitterartiger Knochen aus dem Hüftknochen oder einem anderen Knochen des Patienten selbst entnommen und in den verletzten Teil des Knochens eingefüllt, um die Heilung des Knochengewebes zu fördern. Diese bekannte Methode ist jedoch insofern nachteilig, als der Patient durch die schwerwiegenden Eingriffe, die bei der Operation erforderlich sind, größere Schmerzen erleidet, da weiteres Knochengewebe außer dem verletzten Bereich zur Verwendung entnommen wird. Darüberhinaus ist es nicht immer möglich, eine ausreichende Menge eines körpereigenen (autoplastischen) Knochens aus dem Körper des Patienten zu entnehmen, um einen großen Defekt oder Hohlraum des Knochens zu füllen und es sind bestimmte Ersatzmaterialien erforderlich, um in einem solchen Fall den Mangel an erforderlichem Knochengewebe zu kompensieren.

Außer der Methode der autoplastischen Füllung sind die homogene Knochenimplantationsmethode und die heterogene Knochen-

implantationsmethode bekannt. Bei der homogenen Knochenimplantationsmethode hat man die Verwendung von gefrorenen Knochen und entkalkten Knochen untersucht, diese Methode hat jedoch noch nicht das Stadium der klinischen Anwendung erreicht. Bei der heterogenen Knochenimplantationsmethode wird in manchen Fällen ein sogenannter Kiel- oder Trägerknochen, der durch Entfernung der Proteine aus Rinderknochen erhalten wird, angewendet. Diese bekannten Methoden sind jedoch in beiden Fällen nicht nur von Fremdkörperreaktionen begleitet, sondern haben auch keine osteogene Wirkung, so daß der postoperative Verlauf nicht immer gut ist. Es besteht daher ein steigendes Bedürfnis nach einem künstlichen Füllmaterial zum Ausfüllen von Defekten oder Hohlräumen von Knochen, das ausgezeichnete Verträglichkeit mit dem lebenden Körper zeigt und hohe osteogene Wirkung hat, um die Knochenbildungsreaktion in dem gefüllten Bereich und dessen Nachbarschaft zu fördern, um auf diese Weise die Heilung der Struktur und Funktion des verletzten Knochengewebes zu beschleunigen.

Um die zur Heilung eines gebrochenen Knochens erforderliche Zeit zu verringern, wendet man manchmal eine Methode der inneren Fixierung an, bei der der gebrochene Knochen direkt durch Verwendung einer Metallplatte, eines Nagels oder einer Schraube fixiert wird. Jedoch auch bei Anwendung dieser Methode ist es häufig, daß zur vollständigen Heilung eine sehr lange Dauer, wie 6 Monate oder sogar ein ganzes Jahr, erforderlich ist. Darüber hinaus müssen bei der Anwendung der inneren Fixiermethode die für die innere Fixierung verwendeten Materialien nach der Heilung des gebrochenen Knochens aus dem Körper des Patienten entfernt werden, so daß der Patient starken physischen, psychologischen und wirtschaftlichen Belastungen unterliegt. Wenn ein Füllmaterial der vorstehend erläuterten Art entwickelt wird, welches das Knochenbildungsvermögen fördert und die Heilung des gebrochenen oder verletzten Bereiches beschleunigt, so wird es möglich, das therapeutische Ziel in kurzer Dauer zu erreichen, ohne daß die innere Fixiermethode angewendet werden muß. Ein Füllmaterial der vorstehend genannten Art kann auch zur Bekämpfung der Pseudoarthrose angewendet

werden. Es wird daher angenommen, daß die Entwicklung eines solchen Füllmaterials von großem medizinischen Wert wäre und dem Wohlergehen der Menschen nützlich ist.

Andererseits wurden bisher verschiedene Metalle und Kunststoffmaterialien als Ersatzmaterialien für harte Gewebe des lebenden Körpers angewendet. Diese üblichen Materialien neigen jedoch dazu, in der aggressiven Umgebung in dem lebenden Körper gelöst oder abgebaut zu werden und ihre Anwendung ist häufig mit Giftwirkung oder Fremdkörperreaktionen begleitet. Aus diesem Grund haben in den letzten Jahren biologische Materialien aus Keramik, die verbesserte Verträglichkeit gegenüber dem lebenden Körper zeigen, allgemeine Aufmerksamkeit erregt. In letzter Zeit wurden künstliche Knochen, künstliche Gelenke und künstliche Radix dentis, die aus einkristallinem oder polykristallinem Aluminiumoxid (Al_2O_3) bestehen und künstliche Radix dentis aus gesintertem tertiären Calciumphosphat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) oder gesintertem Hydroxylapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) vorgeschlagen. Es wurde berichtet, daß diese Materialien ausgezeichnete Verträglichkeit gegenüber dem lebenden Körper zeigten und daß beispielsweise keine merkliche Membranbildung, verursacht durch die Fremdkörperreaktion, beobachtet wird, wenn ein gesintertter Formkörper aus Hydroxylapatit in einen Knochen im lebenden Körper implantiert wird, was die direkte Verbindung zwischen dem gesinterten Körper und dem Knochengewebe anzeigt. Diese Implantationsmaterialien haben jedoch den Nachteil, daß sie zu hart und brüchig sind, ähnlich wie die üblichen Keramikmaterialien, und daß daher ihre Zähigkeit und Schlagfestigkeit verbessert werden sollte, um sie praktisch als künstliche Knochen oder künstliche Radix dentis anwenden zu können.

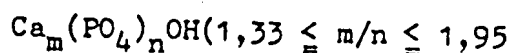
Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Füllmaterial zum Ausfüllen von Knochendefekten oder Hohlräumen in Knochen zur Verfügung zu stellen, das ausgezeichnete Verträglichkeit mit dem lebenden Körper hat und das keine Fremdkörperreaktionen verursacht.

Erfindungsgemäß soll ein Füllmaterial zum Füllen von Knochendefekten oder Hohlräumen in Knochen geschaffen werden, welches

die Bildung von neuem Knochengewebe merklich erleichtert und welches die zur Heilung der Struktur und Funktion des Knochengewebes erforderliche Dauer merklich verkürzt.

Aufgabe der Erfindung ist es außerdem, ein Füllmaterial zum Füllen von Defekten oder Hohlräumen in Knochen zur Verfügung zu stellen, welches mit dem Knochengewebe verwachsen kann und dabei einen einheitlichen autoplastischen Knochen bildet.

Gegenstand der Erfindung ist ein Füllmaterial zum Füllen von Knochendefekten oder Hohlräumen in Knochen, das zur Verwachsung mit dem Knochengewebe befähigt ist, das dadurch gekennzeichnet ist, daß es aus einer pulverförmigen Calciumphosphatverbindung mit Apatit-Kristallstruktur der allgemeinen Formel



mit einer Korngröße der Kristalle von 50 Å bis 10 µm besteht, das in fließfähig gemachtem oder plastifizierten Zustand zur Füllung geeignet ist.

Die Erfindung kann durch die beigefügten Figuren erläutert werden.

Figur 1 ist eine Mikrofotografie eines Querschnitts einer entkalkten Probe aus dem Oberschenkelbein eines Kaninchens, die einen mit dem erfindungsgemäßen Füllmaterial gefüllten Hohlraum aufweist. Das Oberschenkelbein wurde dem Kaninchen entnommen, welches eine Woche nach dem Zeitpunkt der Implantation getötet wurde.

Figur 2 ist eine ähnliche Mikrofotografie wie Fig. 1, zeigt jedoch das Oberschenkelbein, welches dem Kaninchen entnommen wurde, nachdem dieses vier Wochen nach dem Zeitpunkt der Implantation getötet worden war.

Figur 3 zeigt eine ähnliche Mikrofotografie wie Fig. 1, zeigt jedoch das Oberschenkelbein, das dem Kaninchen entnommen wurde, das nach dem Ablauf von drei Monaten getötet wurde.

Figur 4 ist eine Mikrofotografie ähnlich wie Fig. 1, zeigt jedoch das Oberschenkelbein eines Kaninchens mit einem Hohlraum, welcher nicht mit dem erfindungsge-
mäßigen Füllmaterial, sondern mit pulverförmigem Aluminiumoxid gefüllt ist. Das Oberschenkelbein wurde dem Kaninchen entnommen, welches einen Monat nach dem Zeitpunkt der Implantation getötet wurde, und

Figur 5 ist eine Mikrofotografie ähnlich wie Fig. 4; zeigt jedoch das Oberschenkelbein mit einem Hohlraum, der mit einem handelsüblichen organischen Knochenzement an Stelle des Aluminiumoxidpulvers gefüllt ist.

Bekannt sind verschiedene Arten von Calciumphosphatverbindungen, einschließlich eine Verbindung, die als Hydroxylapatit bezeichnet und durch die theoretische Formel $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ dargestellt wird. Eine Gruppe von Mineralien, die allgemein als Apatit bezeichnet werden, kann durch die allgemeine Formel $\text{M}_m(\text{RO}_4)_n\text{X}$ dargestellt werden, in der die mit M bezeichnete Stelle durch ein zweiwertiges Kation, wie Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} und Fe^{2+} oder ein dreiwertiges oder einwertiges Kation, wie Al^{3+} , Y^{3+} , La^{3+} , Na^+ , K^+ und H^+ besetzt ist, die durch RO_4 bezeichnete Stelle durch ein Anion, wie PO_4^{3-} , VO_4^{3-} , BO_3^{3-} , CrO_4^{3-} , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} und SiO_4^{4-} und die durch X bezeichnete Stelle durch ein Anion, wie OH^- , F^- , Cl^- , O^{2-} und CO_3^{2-} besetzt ist.

Diese Gruppe umfaßt zahlreiche Verbindungen mit ähnlichen Kristallstrukturen. Der vorstehend erwähnte Hydroxylapatit ist eine typische Verbindung mit Apatit-Kristallstruktur und mit einer Zusammensetzung, die theoretisch durch die Formel $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ wiedergegeben wird. Die Zusammensetzung dieser Verbindung, wenn diese durch Synthese künstlich hergestellt wird, entspricht jedoch nicht stets der theoretischen Formel, sondern läßt sich durch die Formel $\text{Ca}_m(\text{PO}_4)_n\text{OH}$ wiedergeben, worin das Molverhältnis m/n im Bereich $1,33 \leq m/n \leq 1,95$ liegt. Zwar wurden zahlreiche Hypothesen im Hinblick auf die Erscheinung aufgestellt, daß der Wert m/n (Molverhältnis) in weitem Bereich schwankt, man nimmt jedoch an, daß dies auf die spezielle

Kristallstruktur der Apatitverbindung zurückzuführen ist. Wenn die Zusammensetzung innerhalb des vorstehend angegebenen Bereiches liegt, kann die angestrebte Verbindung synthetisiert werden, wobei das Vorliegen eines Gemisches aus verschiedenen Phasen vermieden wird. Für die Zwecke der Erfindung werden Verbindungen mit einer Zusammensetzung innerhalb des vorstehend angegebenen Bereiches, die in kristallographischer Hinsicht Apatitstruktur haben, als Calciumphosphatverbindungen mit Apatit-Kristallstruktur oder Apatit-Calciumphosphatverbindungen bezeichnet, die Hydroxylapatit der theoretischen Zusammensetzung einschließen. Die durch die Formel $\text{Ca}_m(\text{PO}_4)_n\text{OH}$ dargestellten Calciumphosphatverbindungen lassen sich leicht durch Einführung von verschiedenen Ionen an den Gitterplätzen von Ca , PO_4 und OH modifizieren. Es ist zu betonen, daß die erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen solche Modifikationen einschließen, die durch die Gegenwart von beliebigen anderen Ionen modifiziert sind, soweit die Verträglichkeit mit dem lebenden Körpergewebe nicht verlorenght und so lange in der Zusammensetzung der Bereich des Verhältnisses m/n innerhalb des Bereiches $1,33 \leq m/n \leq 1,95$ gehalten wird.

Die Kristallkorngröße (oder Kristallitkorngröße) der erfindungsgemäß verwendeten Apatit-Calciumphosphatverbindung soll im Bereich von 50 Å bis 10 µm liegen.

Ein besonders bevorzugter Bereich beträgt mehr als 200 Å bis weniger als 3 µm. Die Kristallkorngröße des Hydroxylapatits, der das harte Gewebe des lebenden Körpers bildet, liegt im Bereich von mehreren hundert bis mehreren tausend Å. Es ist wünschenswert, daß die Kristallkorngröße des pulverförmigen Füllmaterials gemäß der Erfindung ungefähr der Kristallkorngröße des Hydroxylapatits entspricht, der im lebenden Körper vorliegt, um die Bildung von neuem Knochengewebe in der Nachbarschaft der Teilchen des Füllmaterials zu fördern, das in die Defekte oder Hohlräume eingefüllt worden ist, und um ein gleichförmiges lebendes Gewebe durch die Verwachsung zwischen den neu gebildeten Knochen und den Teilchen des Füllmaterials auszubilden. Wenn die Kristallkorngröße der Apatit-Calciumphosphat-Verbindung mehr als 10 µm beträgt, wird die Bildung

neuer Knochen verzögert, wodurch eine verlangsamte Heilung der Defekte resultiert und darüber hinaus die neugebildeten Knochen nicht gleichförmig sind. Wenn im Gegensatz dazu die Kristallkorngröße weniger als 50 Å beträgt, sind die Füllmaterialteilchen in dem neuen Knochen weniger kristallisierbar, so daß ihre Fähigkeit zur Verwachsung kein zufriedenstellendes Maß erreicht.

Es wird bevorzugt, daß die Korngrößenverteilung der erfindungsgemäß verwendeten Apatit-Calciumphosphatverbindung derart ist, daß der Pulveranteil mit einer Teilchengröße von 300 µm oder weniger 90 % oder mehr des Gesamtgewichts ausmacht. Wenn der Anteil an Teilchen mit einer Teilchengröße von 300 µm oder weniger 90 Gew.-% nicht erreicht, so neigen die Teilchen dazu, sich aus dem Wasser abzuscheiden, wenn das Füllmaterial mit Wasser oder einer isotonischen Natriumchloridlösung vermischt wird, um fließfähig gemacht oder plastifiziert zu werden. Als Ergebnis davon besteht die Gefahr, daß das Füllmaterial nicht plastifiziert werden kann oder daß die Teilchen nur im unteren Bereich des Hohlraums sedimentiert werden, wobei die Bildung eines ungefüllten Hohlraums im oberen Teil verursacht wird, wenn das Füllmaterial in den lebenden Körper eingefüllt wird. Sofern die Teilchengrößenverteilung innerhalb des vorstehend angegebenen Bereiches liegt, kann das Vorliegen eines gewissen Anteils an größeren Teilchen mit einer Korngröße von etwa mehreren mm toleriert werden.

Für die Zwecke der Erfindung können als Apatit-Calciumphosphatverbindungen natürliche Materialien, beispielsweise Knochenasche, die durch Kalzinieren von tierischen Knochen gewonnen wird, und synthetische Materialien, die mit Hilfe der bekannten Naß-Syntheseverfahren, Trocken-Verfahren und hydrothermalen Verfahren hergestellt werden, verwendet werden. Apatit-Calciumphosphat einer Zusammensetzung innerhalb des vorstehend definierten Bereiches, das mit Hilfe des üblichen Naßverfahrens synthetisiert wird, wird im allgemeinen in Form eines Niederschlages aus winzigen Teilchen erhalten und ist in Abhängigkeit von der Temperatur und anderen Bedingungen in der Synthese-

stufe gewissen Schwankungen unterworfen. Es kann durch Filtration oder Zentrifugalabscheidung aus dem Lösungsmittel abgetrennt und dann bei einer Temperatur unterhalb 500°C getrocknet werden, wonach es unter Bildung eines äußerst feinen pulverförmigen Materials pulverisiert wird. Dieses pulverförmige Material kann direkt fluid gemacht oder plastifiziert werden, wie nachstehend erläutert werden soll, um es als Füllmaterial mit osteogener Wirkung in Defekte oder Hohlräume in Knochen einzufüllen. Vorzugsweise wird jedoch das mit Hilfe des Naßverfahrens hergestellte, vorstehend beschriebene Material bei einer Temperatur im Bereich von 500° bis 1100°C , vorzugsweise 700° bis 900°C kalzinieren, gegebenenfalls einer Pulverisationsbehandlung zur Bildung eines pulverförmigen Materials unterworfen und danach zur Verwendung als Füllmaterial zum Einfüllen in Defekte oder Hohlräume in Knochen fluid oder plastisch gemacht. Auf diese Weise wird die Kristallinität der Teilchen verbessert, das Material in ausreichender Weise durch das Erhitzen sterilisiert, um bakterielle Infektionen zu verhindern und um darüber hinaus Fremdkörperreaktionen, die durch organische Materialien verursacht werden, zu vermeiden. Wenn das Kalzinieren bei einer Temperatur von nicht mehr als 500°C durchgeführt wird, ist es unzufriedenstellend, da kein merkliches Wachstum der Teilchen stattfindet. Wenn die Kalzinierungstemperatur auf höhere Werte als 900°C erhöht wird, kann das Wachstum der Kristallkörner übermäßig stark werden. Wenn die Temperatur des Erhitzens 1100°C überschreitet, werden die Teilchen rasch gesintert und verbacken miteinander unter Klumpenbildung.

Eine Apatit-Calciumphosphatverbindung mit einer relativ groben Kristallkorngröße wird mit Hilfe des Trockenverfahrens oder durch hydrothermale Synthese hergestellt. Falls das erhaltene Produkt Klumpen einschließt, werden diese Klumpen zerkleinert, um ein pulverförmiges Material oder Teilchen zu erhalten. Wenn dieses Pulver oder die Teilchen wieder auf eine Temperatur von weniger als 1100°C erhitzt werden, um die Sterilisation zu erreichen, können diese Materialien glatt in Defekte oder Hohlräume in Knochen eingefüllt werden, um dort ihre Funktion als

Füllmaterial auszuüben.

Das Pulver oder die Teilchen, die nach einem beliebigen der vorstehend genannten Naß, Trocken- und hydrothermalen Syntheseverfahren hergestellt worden sind, können mit Hilfe einer hydraulischen Presse verformt und dann gesintert werden, wonach gegebenenfalls die Pulverisation erfolgt, um poröse Teilchen zu erhalten. Ein bevorzugter Temperaturbereich für die Sinterung beträgt 1100 bis 1350°C und ein speziell bevorzugter Temperaturbereich für die Sinterung ist 1200° bis 1300°C. Wenn die Temperatur auf höhere Werte als 1100°C erhöht wird, verschmelzen die Teilchen miteinander und bilden größere Teilchen mit Poren oder Hohlräumen. Diese Tendenz wird verstärkt, wenn die Temperatur auf mehr als 1200°C erhöht wird. Wenn die Temperatur auf mehr als 1300°C erhöht wird, beginnt die Umwandlung der Apatit-Calciumphosphatverbindung in tertiäres Calciumphosphat und die Zersetzung wird stark beschleunigt, wenn die Temperatur 1350°C erreicht. Wenn solche porösen Teilchen als Füllmaterial verwendet werden, kann das lebende Gewebe in die Poren der Teilchen eindringen. Als Ergebnis davon wird das Wachstum von neuem Knochengewebe durch Verwendung von größeren Teilchen, die mit Poren ausgestattet sind, gefördert.

Das mit Hilfe irgendeines der vorstehend erwähnten Syntheseverfahrens hergestellte Pulver und/oder die durch Kalzinieren oder Sinterung dieses Pulvers erhaltenen Teilchen werden durch Zugabe einer Flüssigkeit, wie Wasser oder einer isotonischen Natriumchloridlösung, fließfähig gemacht oder plastifiziert und dann in die Defekte oder Hohlräume in den Knochen eingefüllt. Durch das Fließfähig- bzw. Fluidmachen oder Plastifizieren des Pulvers oder der Teilchen wird vermieden, daß das feine Pulver verstreut wird und in nicht erwünschten Bereichen des Körpers des Patienten haftet, außer in dem verletzten Bereich, so daß jeder störende Einfluß, der durch das Haften von verstreutem Pulver verursacht wird, ausgeschlossen wird. Ein anderer Vorteil, der durch die Verwendung eines fluid gemachten oder plastifizierten Füllmaterials erzielt wird, besteht darin, daß die

Defekte oder Hohlräume in den Knochen vollständig und gleichmäßig durch einen einfachen Injektionsvorgang mit dem Füllmaterial gefüllt werden. Die Menge der zuzusetzenden Flüssigkeit schwankt in Abhängigkeit von der Teilchengröße des verwendeten Füllmaterials und dem Vorliegen oder der Abwesenheit von Poren. Wenn Wasser oder eine isotonische Natriumchloridlösung verwendet wird, kann die zuzusetzende Menge dieser Flüssigkeit innerhalb des Bereiches gewählt werden, in welchem keine Abscheidung des Wassers auftritt und das Pulver oder die Teilchen ausreichend plastifiziert werden, so daß sie leicht in die Hohlräume eingefüllt werden können. Im allgemeinen werden 0,1 bis 2 Gewichtsteile Wasser oder einer isotonischen Natriumchloridlösung zu einem Gewichtsteil des Füllmaterials gegeben.

Das vorstehend erwähnte Pulver oder die Teilchen können in eine Granuliertvorrichtung, beispielsweise eine Walzen-Granulierungsmaschine, gegeben werden und mit einer Flüssigkeit, wie Wasser oder einer isotonischen Natriumchloridlösung, versetzt werden, um ein körniges Material zu bilden. Die bevorzugte Gestalt der Körner ist sphärisch oder pillenförmig, um das Einfüllen zu erleichtern, und der Durchmesser der Körner kann in Abhängigkeit von den Dimensionen der Defekte oder Hohlräume, in welche das körnige Füllmaterial eingefüllt werden soll, variiert werden. Im allgemeinen liegt der bevorzugte Durchmesser im Bereich von 0,5 bis 5 mm. Die Menge der für die Granulierung verwendeten Flüssigkeit beträgt vorzugsweise 20 bis 50 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht. Die Körner können in einem Behälter, wie einer versiegelten Glasflasche, aufbewahrt und zum Gebrauch in den verletzten Bereich eingegossen werden. Durch Verwendung des körnigen Füllmaterials kann der Hohlraum gleichmäßig mit diesen Körnern gefüllt werden, zwischen denen Hohlräume verbleiben. Wenn eine dichte Füllung gewünscht wird, können die Körner einfach mit Hilfe eines Stabes oder eines ähnlichen Instruments in den Hohlraum eingestampft werden, da die Körner plastisch sind. Diese plastischen Körner haben den Vorteil, daß sie beim Gebrauch leicht gehandhabt werden können und daß ihre Einfüllsdichte nach Wunsch kontrolliert werden kann.

Die vorstehend beschriebenen Körner können bei 1100° bis 1350°C , vorzugsweise 1200° bis 1300°C gesintert werden, wobei gesinterte Perlen gebildet werden. Die Sinterungstemperatur ist aus dem gleichen Grund, der vorstehend für die Sinterung des Pulvers beschrieben wurde, auf den angegebenen Bereich beschränkt. Da die so gebildeten gesinterten Perlen porös sind, kann das lebende Gewebe in die Poren eindringen, so daß die Bildung von neuen Knochen in der Nachbarschaft der die gesinterten Perlen bildenden Teilchen merklich gefördert wird und das gesinterte Material rasch mit dem neuen Knochen verwächst. Um von diesem Vorteil Gebrauch zu machen, beträgt die Porosität der gesinterten Perlen vorzugsweise mehr als 30 %. Wenn die Porosität nicht mehr als 30 % beträgt, wird der vorteilhafte Effekt vermindert. Das lebende Gewebe kann leicht in die Poren mit einem Durchmesser von mehr als $100\text{ }\mu\text{m}$ eindringen. Es wird daher bevorzugt, daß mehr als 50 % der Poren einen Durchmesser von mehr als $100\text{ }\mu\text{m}$ aufweisen. Diese gesinterten Perlen sind vorzugsweise kugelig, so daß sie fließfähig sind, obwohl die einzelnen Perlen fest sind. Es kann daher gesagt werden, daß diese gesinterten Perlen fluidisiert werden können bzw. fließfähig gemacht werden, wie vorstehend angegeben wurde, um in die verletzten Bereiche eingegossen zu werden, so daß sie diese leicht und sofort ausfüllen. Darüber hinaus kann die Korngröße dieser Perlen frei in der Stufe der Bildung der Perlen eingestellt werden. Wenn die Korngrößenverteilung innerhalb eines schmalen Bereiches geregelt wird, kann der verletzte Bereich des Knochens bei niederer Dichte mit einem erhöhten Anteil von Poren gefüllt werden. Wenn im Gegensatz dazu die Korngrößenverteilung breit ist und Perlen mit unterschiedlichen Durchmessern vorliegen, können Füllungen mit relativ hoher Dichte ausgebildet werden. Allgemein ausgedrückt, wird die Bildung von neuen Knochen beschleunigt, wenn ein relativ großer Anteil von Hohlräumen vorliegt.

Die vorstehend beschriebenen porösen gesinterten Perlen können als solche in trockener Form angewendet werden, da sie fließfähig sind, wie vorstehend erwähnt wurde. Die porösen gesinterten Perlen können jedoch mit dem pulverförmigen Füllmaterial

vermischt werden und das Gemisch kann dann mit Wasser oder einer isotonischen Natriumchloridlösung verknetet werden, um es in Form einer Paste anzuwenden. Wenn die porösen Perlen in die Paste eingemischt sind, kann dadurch die Porosität der gesamten Paste erhöht werden. Die gesinterten Perlen können in einem Anteil zugesetzt werden, bei dem die Fluidität oder Plastizität des pastenförmigen Füllmaterials nicht verlorengeht und der bevorzugte Anteil beträgt weniger als 30 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Paste.

Als Füllmaterial zum Füllen von Defekten von Knochen gemäß der Erfindung kann die vorstehend definierte Apatit-Calciumphosphatverbindung für sich angewendet werden. Es wird jedoch bevorzugt, daß eine gitterartige Knochensubstanz, die durch Zerkleinern eines Knochens erhalten wird, mit dem Füllmaterial vermischt wird, um die Knochenbildungsgeschwindigkeit noch weiter zu erhöhen. Eine gitterartige Knochensubstanz mit autoplastischem Ursprung wurde üblicherweise für sich als Füllmaterial zum Füllen von Knochendefekten angewendet. Es ist jedoch häufig der Fall, daß keine ausreichende Menge einer gitterartigen Knochensubstanz zum Füllen des Defekts entnommen werden kann oder es ist erwünscht, daß die Menge der gitterartigen Knochensubstanz mit autoplastischem Ursprung möglichst klein gehalten wird. Die erfindungsgemäß verwendete Apatit-Calciumphosphatverbindung kann in einem gewünschten Verhältnis mit der autoplastisch erhaltenen gitterartigen Knochensubstanz vermischt werden. Andererseits wurden bisher in beschränktem Umfang Knochen fremder Herkunft für sich angewendet, wobei Fremdkörperreaktionen oder andere Schwierigkeiten überwunden werden mußten. Wenn jedoch ein Knochen fremder Herkunft mit der erfindungsgemäßen Apatit-Calciumphosphatverbindung vermischt wird, können störende Reaktionen einschließlich der Fremdkörperreaktion beträchtlich vermindert werden, wodurch die Behandlung erleichtert wird. Der Mischungsanteil des Knochens fremden Ursprungs beträgt vorzugsweise weniger als 50 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht, und insbesondere beträgt der Mischungsanteil weniger als 20 Gew.-%. Wenn mehr als 50 Gew.-% eines Knochens mit fremdem Ursprung zugemischt werden,

wird die Unterdrückung von störenden Reaktionen unzufriedenstellend, wenn auch die Knochenbildungsgeschwindigkeit erhöht wird. In ähnlicher Weise wie bei der alleinigen Verwendung der Apatit-Calciumphosphatverbindung kann das Gemisch aus dieser Verbindung und der gitterartigen Knochensubstanz mit Wasser oder einer isotonischen Natriumchloridlösung versetzt werden, um fluid oder plastisch gemacht zu werden und somit ein Füllmaterial zu erhalten, das in Knochendefekte eingefüllt werden kann.

Das erfindungsgemäße Füllmaterial mit dem vorstehend angegebenen Aufbau hat Fluidität oder Plastizität, so daß beliebige Defekte oder Hohlräume in Knochen unabhängig davon, wie kompliziert ihre Gestalt ist, gleichförmig und vollständig damit gefüllt werden können.

Darüber hinaus unterscheidet sich das erfindungsgemäße Füllmaterial von den üblichen Implantationsmaterialien, die aus einheitlichen Formkörpern bestehen, darin, daß es pulverförmig ist und in den fluidisierten oder plastifizierten Zustand übergeführt wird, bevor es in den beschädigten Bereich des Knochens eingefüllt wird, wodurch gewährleistet wird, daß das Pulver gleichförmig in den mit dem Implantat zu versiehenden lebenden Körper eingebracht werden kann und daß die Oberflächen des Pulvers leicht mit dem wachsenden Gewebe bedeckt werden können. Eine ausführlichere Beschreibung der charakteristischen Merkmale des erfindungsgemäßen Füllmaterials in dieser Hinsicht wird nachstehend gegeben.

Wenn die Apatit-Calciumphosphatverbindung direkt in Form von Pulver in den beschädigten Bereich des Knochens eingefüllt wird, so neigen die Teilchen dazu, miteinander zu koagulieren und Aggregationen zu bilden, die das Eindringen des wachsenden Gewebes zwischen die Teilchen behindern. Das erfindungsgemäße Füllmaterial wird jedoch im fluid gemachten oder plastifizierten Zustand zugesetzt, wodurch ermöglicht wird, daß die Teilchen in relativ dichtem Zustand dispergiert werden, wie in Fig. 1 gezeigt ist, wobei ermöglicht wird, daß das wachsende Gewebe zwischen die Teilchen eindringt. Es ist ein wesentliches

Merkmal der Erfindung, daß die Teilchen nicht koaguliert sind, sondern in dichtem Zustand dispergiert sind. Feinpulverisierte Materialien haben im trockenen Zustand wasserabweisende Eigenschaften, wodurch das Eindringen des lebenden Gewebes in das trockene Füllmaterial behindert wird. Da jedoch das erfindungsgemäße Füllmaterial angewendet wird, nachdem es mit Wasser oder einer isotonischen Natriumchloridlösung benetzt worden ist oder nachdem es granuliert wurde, dringt das lebende Gewebe leicht in das Füllmaterial ein, welches in den Knochendefekt eingefüllt wurde. Als Ergebnis der kombinierten Wirkung der Dispersion des Pulvers und des Eindringens bzw. Eindiffundierens von lebendem Gewebe wird die Bildung von neuem Knochengewebe gefördert. Wenn das erfindungsgemäße Füllmaterial in einen Defekt oder Hohlraum eines Knochens eingefüllt wird, so umgibt bereits nach Ablauf einer kurzen Zeit neues Granulationsgewebe die Teilchen und die Teilchen liegen dispergiert in dem Granulationsgewebe vor. Es ist zu betonen, daß keinerlei Riesenzellen, die durch Fremdkörper verursacht werden, auftreten, da das erfindungsgemäße Pulver aus der Apatit-Calciumphosphatverbindung bemerkenswert verbesserte Verträglichkeit mit dem lebenden Gewebe hat. Unter diesen Bedingungen haften Osteoide mit begleitenden Osteoblasten an den Randbereichen der Teilchen, ohne daß durch Fremdkörper verursachte Membranen gebildet werden und neue Knochengewebe werden von den Randflächen der Teilchen ausgehend und in ihrer Nachbarschaft rasch gebildet und im Verlauf der Zeit gehen die Granulationsgewebe in Bindegewebe über. Das pulverförmige erfindungsgemäße Füllmaterial hat eine große Oberfläche, wodurch die Bildungsgeschwindigkeit des neuen Knochens beträchtlich erhöht wird. Das auf den Oberflächen der Teilchen gebildete neue Knochengewebe wächst weiter und vernetzt die Teilchen, die in geringen Abständen vorliegen. Während die vernetzenden Strukturen wachsen, bildet sich an verschiedenen Stellen neue gitterartige Knochensubstanz (cancellous bones) und schließlich sind alle Füllmaterialteilchen miteinander durch die neue dichte gitterartige Knochensubstanz zu einer Einheit verbunden.

Als Ergebnis hat sich eine einheitliche Struktur gebildet, in der Pulvertelchen der Apatit-Calciumphosphatverbindung in einem neu gebildeten Knochenbalken dispergiert sind, der niedere Calciumdichte hat. Der neue Knochen wird allmählich dichter und bildet ein neues Knochengewebe mit der gleichen Zusammensetzung wie der umgebende alte Knochen und bedeckt damit den Defekt bzw. füllt den Hohlraum des Knochens aus. Schließlich ist der verletzte Bereich vollständig ausgeheilt, ohne daß merkliche Unterschiede bestehen, da die Teilchen des Füllmaterials in dem neuen Knochen assimiliert sind. Die Bildung von Knochengewebe, die durch das erfindungsgemäße Füllmaterial stimuliert wird, schreitet jedoch nicht zu weit über die funktionellen Erfordernisse hinaus fort, die im allgemeinen für normales Knochengewebe notwendig sind. In dieser Hinsicht zeigt das erfindungsgemäße Füllmaterial den weiteren Vorteil, daß Anteile des Materials, die in unnötige Bereiche eingefüllt wurden, von dem lebenden Körper absorbiert werden. Wie vorstehend erwähnt wurde, bildet sich neues Knochengewebe zuerst auf den Oberflächen der Füllmaterialteilchen. Es wird daher bevorzugt, daß die spezifische Oberfläche der Teilchen erhöht wird und daß eine große Anzahl an Teilchen in der Volumeneinheit vorhanden ist, um die Knochenbildungsgeschwindigkeit zu erhöhen. Auch die Zwischenräume zwischen den Teilchen sollten in gewissem Ausmaß geringer sein, um zu ermöglichen, daß das neue Knochengewebe die Teilchen miteinander vernetzt und somit ein Knochenbalken gebildet wird und schließlich die gesamte Struktur unter Bildung einer gitterartigen Knochen-substanz verbunden wird. Die Assimilationsgeschwindigkeit wird erhöht, wenn die Teilchengröße geringer ist, da die Verbindung von den Oberflächen der Teilchen in Richtung der inneren Bereiche von dem neu gebildeten Knochen assimiliert wird. Im Hinblick auf die vorstehenden Ausführungen werden kleinere Teilchen bevorzugt, um die Knochenbildungsgeschwindigkeit zu erhöhen. Da jedoch osteogene Materialien aus dem lebenden Körper zwischen die Teilchen eindringen sollen, wird die Teilchengröße spontan begrenzt und die untere Grenze der Teilchengröße ist daher durch die Zufuhr der osteogenen Materialien bestimmt.

Wie aus der vorstehenden Beschreibung im Hinblick auf den Aufbau, die Wirkung und Funktion der Erfindung klar ersichtlich ist, unterscheidet sich die Erfindung völlig von dem üblichen technischen Prinzip der Bereitstellung von Ersatzmaterialien für harte Gewebe, einschließlich künstlicher Knochen und künstlicher Radix dentis, die aus gesintertem einkristallinem Aluminiumoxid (Saphir), gesintertem polykristallinen Aluminiumoxid oder gesintertem Hydroxylapatit bestehen und die mit dem Ziel entwickelt wurden, lediglich die Fremdkörperreaktion zwischen dem Knochengewebe und dem Material zu verhindern und das Haftvermögen zu verbessern. Anders ausgedrückt, fördert das erfindungsgemäße Füllmaterial die Selbstregenerierung oder die Selbstheilungs-Fähigkeit des Knochengewebes des Patienten, die an den Defekten oder Hohlräumen in den Knochen stattfindet und das Füllmaterial selbst wird in das Knochengewebe eingebaut und verwächst mit diesem. Aus diesem Grund ist die eigene Festigkeit des erfindungsgemäß verwendeten Materials unwichtig.

Obwohl eine merkliche Wirkung nur durch Einfüllen des erfindungsgemäßen Füllmaterials in Defekte oder Hohlräume in Knochen erreicht werden kann, wird die Bildung von neuem Knochen weiter gefördert, wenn ein Teil des Füllmaterials die Knochenmarkhöhle erreicht. Neue Knochen werden zuerst in den defekten Bereichen gebildet, wo die Füllmaterialteilchen mit dem Knochenmark in Berührung kommen und wachsen dann allmählich in die Hohlräume hinein. Das neu gebildete Knochengewebe, das in der Knochenmarkhöhle gebildet wird und letzten Endes im wesentlichen wieder entfernt wird, wird jedoch unter der Einwirkung von Osteoclasten durch den lebenden Körper absorbiert und die notwendige Menge des neuen Knochens verbleibt nur in dem erforderlichen Bereich. Nach dieser Methode ist es möglich, die Heilung zu gewährleisten und die zur Behandlung erforderliche Dauer zu verkürzen. Das erfindungsgemäße Füllmaterial erfüllt seine Funktion nur dann, wenn es im Medium des lebenden Körpers angewendet wird, in dem Knochengewebe gebildet werden soll, anders ausgedrückt, nur dann, wenn es in die Defekte oder Hohlräume von Knochen eingebracht wird. Ein

Versuch, bei dem das erfindungsgemäße Füllmaterial in das Oberschenkel-Muskelgewebe eines Kaninchens eingespritzt wurde, zeigte, daß keinerlei Anzeichen einer Knochenbildung in dem Muskelgewebe auftraten.

Wie vorstehend ausführlich beschrieben wurde, zeigt das erfindungsgemäße pulverförmige oder teilchenförmige Material in Form einer Apatit-Calciumphosphatverbindung bemerkenswert verbesserte Verträglichkeit mit oder Anpaßbarkeit an lebende Gewebe und hat außerdem ausgezeichnete osteogene Wirkung. Darüber hinaus ist das erfindungsgemäße Füllmaterial insofern vorteilhaft, als es in das einzubringende Knochengewebe einwächst und eine synergistische Wirkung hervorruft, indem es die Regenerierung oder Selbstheilwirkung des Knochengewebes selbst bemerkenswert fördert. Das erfindungsgemäße Füllmaterial wird in einfacher Weise angewendet und die Ausgangsmaterialien für das Füllmaterial können aus unerschöpflichen Quellen gewonnen werden, so daß es möglich wird, den Mangel an autoplastischen Knochen zu kompensieren.

Das erfindungsgemäße Füllmaterial kann nicht nur zum Füllen von Defekten oder Hohlräumen in Knochen angewendet werden, um Knochentumoren oder Knochenbrüche zu heilen, oder für arthroplastische Operationen, Operationen zur Spinalfusion und für die Operation zur Bandscheibenfusion angewendet werden, sondern auch zum Ausfüllen des verletzten Bereiches, der durch den Processus alveolaris gebildet wird, verursacht durch Pyorrhea alveolaris.

Die Erfindung wird nachstehend ausführlicher anhand mehrerer Beispiele beschrieben. Es ist jedoch zu betonen, daß die Erfindung nicht auf diese Beispiele beschränkt ist.

In dieser Beschreibung und den Patentansprüchen wird die Kristall-Korngröße der Calciumphosphatverbindung mit Apatit-Kristallstruktur durch den Wert der C-Achse jedes Kristallits angegeben, der aus der Halbwertsbreite der durch Röntgenstrahlen-Beugung erhaltenen Beugungslinie erhalten wird, wobei der Abstand (002) $2\theta = 25,9^\circ$ beträgt, wenn die Kristall-Korngröße weniger als $0,1 \mu\text{m}$ beträgt. Wenn die Kristall-Korngröße dagegen

mehr als $0,1 \mu\text{m}$ beträgt, wird diese durch den praktisch bestimmten durchschnittlichen Durchmesser der Kristallkörner in Längsrichtung angegeben, der durch Messung mit Hilfe eines Scanning-Elektronenmikroskops erhalten wird.

Beispiel 1

Eine Calciumphosphatverbindung mit Apatitstruktur (Molverhältnis $\text{Ca/P} = 1,65$) wurde mit Hilfe eines Naßverfahrens hergestellt, wobei Phosphorsäure tropfenweise zu einer Lösung von Calciumhydroxid gegeben wurde. Die erhaltene Verbindung in Form eines getrockneten Pulvers wurde 5 Stunden lang bei 850°C kalzinisiert. Die Größe bzw. Abmessung der Kristallite wurde durch die Röntgenstrahlenbeugung gemessen, wobei festgestellt wurde, daß der durchschnittliche Durchmesser der Kristallite längs der C-Achse etwa 600 \AA und der durchschnittliche Durchmesser der Kristallite längs der a-Achse etwa 500 \AA betrug. Größere Pulveranteile wurden entfernt, so daß sämtliche Teilchen ein Sieb einer Maschenweite von $300 \mu\text{m}$ passierten. Dem so erhaltenen Pulver wurde eine isotonische Natriumchloridlösung unter Bildung einer Paste zugesetzt und die Paste wurde dann in die Knochenmarkhöhle des Oberschenkelknochens eines Kaninchens eingefüllt. Der gefüllte Anteil wurde beobachtet. Die Bildung von neuem Knochengewebe in der Nachbarschaft des eingefüllten Pulvers wurde nach nur einer Woche vom Zeitpunkt des Einfüllens der Paste aus der Apatit-Calciumphosphatverbindung beobachtet und es wurde keinerlei merkliches Anzeichen einer Fremdkörperreaktion beobachtet. Das gebildete neue Knochengewebe wuchs rasch und es wurde festgestellt, daß die Teilchen der Verbindung vollständig in die neu gewachsenen Knochen eingelagert und mit dem Knochengewebe verwachsen waren. Aus dem Vorstehenden ist ersichtlich, daß das aus dieser Verbindung bestehende Pulver merkliche osteogene Kapazität hat, die als spezieller Effekt der Apatit-Calciumphosphatverbindung angesehen werden kann im Vergleich mit dem Ergebnis eines ähnlichen Vergleichsversuches, in welchem pulverförmiges Aluminiumoxid verwendet wurde.

Beispiel 2

Jede der pulverförmigen Verbindungen, die mit Hilfe des Naßverfahrens synthetisiert wurden und die Verhältnisse m/n von 1,38, 1,56, 1,73 bzw. 1,89 hatten, wurden 2 Stunden bei 850°C kalziniert. Die Kristallkorngrößen dieser Proben, die durch Bestimmung der Durchmesser der Kristallite mit Hilfe der Röntgenbeugungsmethode gemessen wurden, hatten folgende Werte:

m/n	durchschnittlicher Durchmesser längs der C-Achse	durchschnittlicher Durchmesser längs der a-Achse
1,38	580 Å	400 Å
1,56	640 Å	450 Å
1,73	720 Å	520 Å
1,89	800 Å	600 Å

Die kalzinierten pulverförmigen Materialien wurden gesiebt, wobei Pulverproben mit Korngrößen von weniger als 149 µm erhalten wurden. Jede pulverförmige Probe wurde der Röntgenstrahlenbeugung unterworfen, um festzustellen, daß alle pulverförmigen Proben die Beugungsmuster des Hydroxylapatits zeigten und keine anderen Verbindungen enthielten. Nach der in Beispiel 1 beschriebenen allgemeinen Verfahrensweise wurde jede der pulverförmigen Verbindungen in die Knochenmarkhöhle des Oberschenkelknochens eines Kaninchens eingebracht und die Bildung von neuem Knochengewebe in dem gefüllten Bereich wurde beobachtet, um zu bestätigen, daß die Wirkung jedes dieser pulverförmigen Materialien auf die Bildung von Knochengewebe gleich der in Beispiel 1 beobachteten war.

Wie vorstehend erläutert wurde, wird die Zusammensetzung der künstlich synthetisierten Apatit-Calciumphosphatverbindungen nicht immer durch die theoretische allgemeine Formel $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ wiedergegeben, sondern kann auch durch die allgemeine Formel $\text{Ca}_m(\text{PO}_4)_n\text{OH}$ wiedergegeben werden, worin das Verhältnis m/n, d.h. das Molverhältnis von Ca zu P innerhalb des

Bereiches von 1,33 bis 1,95 schwankt. Erfindungsgemäß werden alle diese Verbindungen, deren Zusammensetzung im vorstehend angegebenen Bereich liegt, unter der Bezeichnung Apatit-Calciumphosphatverbindung zusammengefaßt. Bei Betrachtung der in diesem Beispiel erzielten Ergebnisse erscheint die Feststellung vernünftig, daß alle diese Verbindungen, deren Zusammensetzung der vorstehend angegebenen Definition genügt, ähnliche Wirkungen zeigen, wie die Ergebnisse des Tierversuches, der in Beispiel 1 beschrieben ist.

Beispiel 3

Das in Beispiel 1 verwendete pulverförmige Material, bestehend aus einer Apatit-Calciumphosphatverbindung mit einem Molverhältnis von $m/n = 1,65$, das mit Hilfe des Naßverfahrens hergestellt worden war, wurde bei 110°C ausreichend getrocknet und dann gesiebt, so daß eine Probe erhalten wurde, die ein Sieb einer Maschenweite von $149\text{ }\mu\text{m}$ passierte. Das getrocknete und gesiebte Pulver wurde durch Formpressen zu einem rechtwinkligen Parallelepipiped einer Größe von $2 \times 3 \times 5\text{ cm}$ verformt, das eine Porosität von etwa 50 % hatte. Dieses rechtwinklige Parallelepipiped wurde 2 Stunden lang an der Luft bei 1300°C gesintert, wobei ein Sinterkörper mit einer Dichte von etwa 95 % der theoretischen Dichte erhalten wurde. Der Sinterkörper wurde zerkleinert und pulverisiert und die Pulverteilchen wurden dann fraktioniert, wobei eine weitere Probe mit einer Korngrößenverteilung im Bereich von 0,3 bis 0,04 mm erhalten wurde. Diese beiden Proben, d.h. die getrocknete Pulverprobe und die gesinterte Probe, wurden in ähnlichen Tierversuchen angewendet, wie sie in den vorhergehenden Beispielen unter Verwendung des kalzinierten Pulvers durchgeführt worden waren. Die Ergebnisse der Tierversuche zeigten, daß neue Knochen rasch in der Nachbarschaft des getrockneten Pulvers und auch in der Nachbarschaft der gesinterten Körner gebildet wurden, ähnlich wie in den vorhergehenden Beispielen. Ein Vergleich zwischen der Bildungsgeschwindigkeit des Knochengewebes unter Verwendung der pulverförmigen kalzinierten

Materialien gemäß Beispielen 1 und 2, der Bildungsgeschwindigkeit des Knochengewebes bei Anwendung des getrockneten Pulvers gemäß Beispiel 3 und der Bildungsgeschwindigkeit des Knochengewebes bei Anwendung der gesinterten Körner gemäß Beispiel 3 wurde durchgeführt, um die Wirkungen der Kalzinierung und Sinterung für den Fall festzustellen, in welchem eine mit Hilfe des Naßverfahrens synthetisierte Apatit-Calciumphosphatverbindung verwendet wird. Der Vergleich zeigte, daß das kalzinierte pulverförmige Material die besten Ergebnisse verursachte, daß die gesinterten Körner den nächsten Platz belegten und daß das getrocknete Pulver diesen beiden Substanzen etwas unterlegen war. Nach der Röntgenstrahlen-Beugungsanalyse bestand jedes der getrockneten pulverförmigen Materialien aus feinen Kristalliten, die längs der C-Achse eine Ausdehnung von 50 bis 300 Å hatten und jedes der kalzinierten pulverförmigen Substanzen bestand aus Kristalliten, deren Ausdehnung längs der C-Achse etwa 200 bis 1000 Å betrug, während die Kristall-Korngröße der in diesem Beispiel verwendeten gesinterten Körner im Bereich von 0,5 µm als unterer Grenzwert bis 7,5 µm als oberer Grenzwert liegt, wobei die Durchschnittsgröße 5 µm beträgt, wie durch Scanning-Elektronenmikroskopie bestimmt wurde.

Aus diesen Ergebnissen ist klar ersichtlich, daß pulverförmige oder körnige Materialien aus einer Calciumphosphat-Verbindung, die im wesentlichen aus Hydroxylapatit-Kristallen besteht und durch die Formel $\text{Ca}_m(\text{PO}_4)_n\text{OH}$, in der das Molverhältnis durch die Gleichung $1,33 \leq m/n \leq 1,95$ ausgedrückt wird, dargestellt wird, ausgezeichnete osteogene Wirkung haben, so daß sie die Regenerierung des Knochengewebes merklich beschleunigen, wenn sie in Defekte oder Hohlräume von Knochen eingefüllt werden. Es ist ersichtlich, daß die vorstehend angegebene Verbindung aus dem gleichen anorganischen Material besteht, welches das Knochengewebe des lebenden Körpers bildet, so daß die Verbindung mit dem umgebenden Knochengewebe verwächst, während der neue Knochen wächst und kalzifiziert wird. Jede beliebige Apatit-Calciumphosphat-Verbindung kann als Ausgangsmaterial für das erfindungsgemäße Füllmaterial angewendet werden, unabhängig

von dem zu seiner Herstellung angewendeten Syntheseverfahren. Zusätzlich zu dem pulverförmigen Material, welches mit Hilfe des Naßverfahrens synthetisiert wird, können auch pulverförmige Materialien oder Teilchen, die mit Hilfe des Trockenverfahrens oder des hydrothermalen Verfahrens hergestellt wurden, eingesetzt werden, um die Defekte von Knochen auszufüllen. Wenn irgendeine der verschiedenen Apatit-Calciumphosphatverbindungen, die mit Hilfe der verschiedenen Verfahren hergestellt und Nachbehandlungen unterworfen wurden, angewendet wird, so schwankt die Bildungsgeschwindigkeit des neuen Knochens in der Nachbarschaft der Teilchen in Abhängigkeit von der Korngröße der Kristalle, welche die pulverförmige Verbindung darstellen. Aus diesem Grund ist es nicht vorteilhaft, wenn die Korngröße der Kristalle in dem Pulver zu grob ist und die Kristallkorngröße soll daher entsprechend dem technischen Prinzip der Erfindung innerhalb eines Bereiches von 50 Å bis 10 µm liegen. Es wird bevorzugt, das pulverförmige Produkt zu verwenden, das durch Kalzinieren der mit Hilfe eines Naßverfahrens synthetisierten Verbindung bei einer Temperatur von 500 bis 1100°C erhalten wird, wenn es erforderlich ist, die Bildung von neuem Knochen rasch zu fördern. Das Füllmaterial, das durch Sintern der Apatit-Calciumphosphat-Verbindung bei einer Temperatur im Bereich von 1100 bis 1350°C hergestellt wird, und das Füllmaterial, das mit Hilfe des Trockensyntheseverfahrens hergestellt wird, können eine kleine Menge an Kristalliten von tertiärem Calciumphosphat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) enthalten, die keine Apatit-Kristallstruktur haben. Tertiäres Calciumphosphat in einer Menge von etwa 3 bis 5 Gew.-% wurde dem in diesem Beispiel verwendeten gesinterten Pulver zugemischt und durch Röntgenstrahlen-Beugungsanalyse nachgewiesen. Das zugemischte tertiäre Calciumphosphat beeinträchtigt jedoch die wesentliche Funktion des erfindungsgemäßen Füllmaterials nicht ernsthaft, so lange sein Mischungsanteil auf etwa 5 Gew.-% beschränkt ist und ein Füllmaterial, das eine kleine Menge an tertiärem Calciumphosphat enthält, kann daher ohne störende Wirkungen als erfindungsgemäßes Füllmaterial eingesetzt werden.

Beispiel 4

740 g Calciumhydroxid (chemisches Spezialreagens der Junsei Kagaku K.K.) wurde in 20 l Wasser suspendiert. Eine etwa 30-gewichtsprozentige Lösung von Phosphorsäure (hergestellt durch Verdünnen eines chemischen Reagens mit speziellem Reinheitsgrad der Wako Junyaku K.K.) wurde tropfenweise zu der Suspension gegeben, während die Suspension gerührt und bei 40°C gehalten wurde, bis der pH-Wert der Flüssigkeit 8,8 erreichte. Das Rühren wurde eine weitere Stunde fortgesetzt und die Suspension wurde dann bei 40°C 48 Stunden lang ruhig stehen gelassen, um sie zu altern. Dabei wurde ein Niederschlag von Apatit-Calciumphosphat erhalten. Dieser Niederschlag wurde mit Hilfe eines Saugfilters abfiltriert, gewaschen und dann in einem Trockner mit zirkulierender Heißluft, der bei 105°C gehalten wurde, 24 Stunden lang getrocknet. Der dabei erhaltene Kuchen wurde in einem keramischen Mühlgemäß pulverisiert, wobei ein trockenes Pulver mit einer solchen Teilchengröße erhalten wurde, daß es ein Sieb einer Maschenweite von 300 µm passierte. Das Pulver wurde dann 6 Stunden lang in einem bei 800°C gehaltenen elektrischen Ofen kalziniert. Die Kristallkorngröße des kalzinierten Pulvers wurde durch Röntgenstrahlenbeugung gemessen, wobei festgestellt wurde, daß der Durchmesser der Kristallkörner längs der C-Achse etwa 550 Å und der Durchmesser längs der a-Achse etwa 470 Å betrug. Nach dem Kühlen der Außenseite des Ofens wurde das kalzinierte Pulver unter Verwendung eines Siebs mit einer Maschenweite von 149 µm klassiert, um größere Teilchen zu entfernen und dann 1 Stunde lang in dem elektrischen Ofen durch erneutes Erhitzen auf 800°C sterilisiert. Auf diese Weise wurde eine im Tierexperiment anzuwendende kalzinierte Pulverprobe hergestellt und in eine saubere Glasampulle eingeschiegelt.

Die Pulverprobe wurde der Röntgenstrahlen-Beugung unterworfen, um zu bestätigen, daß die Probe aus kristallinem Hydroxylapatit bestand und keine andere Verbindung vorhanden war. Sie wurde außerdem der chemischen Analyse unterworfen, wobei ein Molverhältnis von Ca zu P, d.h. ein Verhältnis von m/n von 1,67,

aufgefunden wurde, welches mit der theoretischen Zusammensetzung einer Hydroxylapatitverbindung der Formel $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ übereinstimmt.

Kaninchen mit einem Gewicht von je etwa 4 kg wurden als Versuchstiere für das nachstehende Tierexperiment ausgewählt. Unter intravenös verabreichter Anästhesie wurden durch den Oberschenkelknochen jedes Kaninchens zwei Löcher mit einem Durchmesser von je etwa 3 mm unter einem Abstand von 15 mm gebohrt. In die Knochenmarkhöhle zwischen den beiden Löchern wurde eine Paste eingespritzt, die durch Vermischen von 10 g des Pulvers mit 8 ml einer isotonischen Natriumchloridlösung erhalten wurde. Die Kaninchen wurden eine Woche bis sechs Monate nach der Implantation getötet und nach dem Markieren mit Tetracyclin wurden die Oberschenkelknochen in dem Bereich zwischen den beiden Löchern quer geschnitten. Aus den Knochen jedes der getöteten Kaninchen wurden entkalkte und nicht entkalkte Proben zubereitet und die histologischen Veränderungen dieser Proben wurden beobachtet.

Figur 1 ist eine Mikrofotografie in etwa 200-facher Vergrößerung eines Querschnitts durch eine entkalkte Probe, welche den mit der Paste gefüllten Bereich zeigt. Diese Probe wurde nach einer Woche von dem Zeitpunkt der Implantation an aus dem Kaninchen entnommen.

Wie aus der Figur ersichtlich ist, sind Teilchen 1 aus der Apatit-Calciumphosphat-Verbindung in dem jungen Granulationsgewebe 3 verstreut und das Osteoid mit dem begleitenden Osteoblasten haftet an den Randbereichen der Teilchen 1. Neues gitterartiges Knochengewebe 2 wird in den Bereichen gebildet, in denen die Teilchen 1 relativ dichter vorliegen und dieses neu gebildete Knochengewebe vernetzt die Teilchen. Es werden jedoch keinerlei durch Fremdkörper verursachte Riesenzellen beobachtet. Es ist ein Unterscheidungsmerkmal des erfindungsgemäßen Füllmaterials, daß das neu gebildete Knochengewebe mit den Randbereichen der Teilchen 1 der Apatit-Calciumphosphat-Verbindung in Berührung steht, ohne daß eine Fremdkörpermembran gebildet wird. Dies zeigt, daß diese Verbindung merklich ver-

besserte Verträglichkeit mit dem lebenden Körper und beträchtlich hohe osteogene Kapazität besitzt. In der Figur bezeichnet die Bezugsziffer 7 den Cortical-Knochen (cortical bone).

Vier Wochen nach dem Zeitpunkt der Implantation sind alle Teilchen der Apatit-Calciumphosphat-Verbindung miteinander durch die neuen Knochen verbunden und bilden eine einheitliche und dichte Struktur aus gitterartigem Knochengewebe.

Figur 2 ist eine mikroradiographische Fotografie (in einer Vergrößerung von etwa 200) des Querschnitts einer nicht entkalkten Probe, welche den Bereich zeigt, der mit der Paste gefüllt ist, welche die Teilchen der Apatit-Calciumphosphat-Verbindung enthält. Die Probe wurde dem Kaninchen vier Wochen nach dem Zeitpunkt der Implantation entnommen. Es kann gezeigt werden, daß hochdichte Teilchen 1 der Apatit-Calciumphosphat-Verbindung in verteilter Form in einem Streifen niederer Dichte aus dem neuen Knochen 4 vorhanden sind und daß der Abstand zwischen den neuen gitterartigen Knochen mit dem Knochenmarkgewebe 5 ausgefüllt sind. Es wird auch beobachtet, daß der neue Knochen rasch gebildet wird, ohne daß diese Bildung von Fremdkörperreaktionen begleitet ist, und daß alle eingefüllten Teilchen 1 in den neu gebildeten Knochenbalken 4 aufgenommen werden und miteinander verbunden werden.

Figur 4 ist eine Mikrofotografie (in etwa 400-facher Vergrößerung) der entkalkten Probe, welche den mit Bohrung versehenen Teil des Oberschenkelknochens des Kaninchens zeigt, der drei Monate nach dem Zeitpunkt der Implantation dem Kaninchen entnommen wurde. Der gebohrte Bereich, d.h. der künstlich gebildete Defekt des Knochens in dem Oberschenkelknochen (Corticalknochen) ist durch den neuen Corticalknochen 6 vollständig wiederhergestellt und der gebohrte Bereich bildet einen einheitlichen Körper mit dem umgebenden ursprünglichen Oberschenkelbein (Corticalknochen 7). Obwohl verstreute Teilchen 1 in dem Teil des neu gebildeten Knochens zu beobachten sind, wird keine Fremdkörperreaktion festgestellt, was die ausgezeichnete Verträglichkeit des Füllmaterials mit dem lebenden Körper zeigt.

00 10 00

3038047

- 28 -

Es wird außerdem beobachtet, daß in der Knochenmarkhöhle junges Knochenmarkgewebe 5 vorhanden ist. Es kann ferner gezeigt werden, daß das Knochenmarkgewebe in diesem Bereich durch das Einspritzen der Paste aus der Apatit-Calciumphosphat-Verbindung regeneriert und verjüngt wird.

Obwohl die Knochenbildung in manchen Bereichen selbst sechs Monate nach der Implantation beobachtet wird, herrscht doch in der Knochenmarkhöhle die Absorption von Knochen vor und die Gesamtzahl der gitterartigen Knochenstreifen wird vermindert und diese werden größer. Andererseits wird der in dem gebohrten Bereich gebildete neue Knochen in Cortical-knochen umgewandelt und verwächst mit dem umgebenden ursprünglichen Oberschenkelbein. Dies zeigt, daß die Bildung von neuem Knochen in dem Defekt und in der Knochenmarkhöhle nicht unbegrenzt fortschreitet, sondern letzten Endes dem funktionellen Bedarf des lebenden Körpers angepaßt wird. Im Hinblick auf diese Tatsache kann das erfindungsgemäße Füllmaterial als ideales Füllmaterial betrachtet werden.

Beispiel 5

Eine mit Hilfe des Naßverfahrens synthetisierte Calciumphosphat-Verbindung wurde entwässert und getrocknet, wobei ein Kuchen gebildet wurde, der zwei Stunden lang bei 1000°C kalziniert wurde. Die Kristallkorngröße wurde mit Hilfe eines Scanning-Elektronenmikroskops gemessen, wobei eine durchschnittliche Kristallkorngröße von 0,2 µm festgestellt wurde, wobei der Mindestwert der Kristallkorngröße 0,1 µm und der Maximalwert der Kristallkorngröße 0,4 µm betrug. Dieser Kuchen wurde in einer keramischen Mühle pulverisiert, wobei eine Pulverprobe erhalten wurde, die ein Sieb einer Maschenweite von 149 µm passierte. Die Pulverprobe wurde der Röntgenstrahlen-Beugungsanalyse unterworfen, um zu bestätigen, daß die Probe nur aus dem kristallinen Hydroxylapatit bestand und keine andere Verbindung in ihr enthalten war. Die Probe wurde außerdem einer chemischen Analyse unterworfen, wobei festgestellt wurde, daß das Molverhältnis Ca/P 1,63 betrug. Diese Pulverprobe wurde

130015/1044

erneut 5 Stunden lang auf 500°C erhitzt, um sie zu sterilisieren. Auf diese Weise wurde eine für Tierversuche zu verwendende Pulverprobe hergestellt und in eine saubere Glasampulle eingesiegelt.

Ein Teil des Corticalknochens des Oberschenkelbeins eines erwachsenen Kaninchens, das ein Gewicht von etwa 4 kg hatte, wurde entfernt, um künstlich einen Defekt einer Größe von etwa 2 mm x 5 mm zu bilden. Ein Gewichtsteil eines gitterartigen Knochens, der von dem Kaninchen selbst entnommen wurde, wurde mit einem Gewichtsteil der pulverförmigen Apatit-Calciumphosphat-Verbindung vermischt und ferner wurde 0,3 Gewichtsteil destilliertes Wasser zugesetzt und das Gemisch verknetet, um es zu plastifizieren. Das plastifizierte Gemisch wurde in den in dem Knochen ausgebildeten Defekt eingefüllt. Die gleiche Operation wurde an einer Gruppe von Kaninchen vorgenommen, die dann nacheinander getötet wurden. Der Teil des Oberschenkelbeins, der den Defekt enthielt, wurde querschnitten, um histologische Proben herzustellen und die histologischen Veränderungen wurden beobachtet.

Eine Woche nach der Operation wurde in der Nachbarschaft der Teilchen der Apatit-Calciumphosphat-Verbindung merkliche Bildung von neuem Knochengewebe beobachtet und die Teilchen der Apatit-Calciumphosphat-Verbindung und die autoplastisch implantierten Knochenstücke waren miteinander durch die vernetzende Struktur dieser neuen Knochen verbunden, ohne daß Fremdkörperreaktionen auftraten. Nach vier Wochen wurde eine beträchtliche Entwicklung des Wachstums eines neuen Knochenbalkens beobachtet und sämtliche Teilchen der Apatit-Calciumphosphat-Verbindung und die gitterartigen Knochenteile waren durch die neuen Knochenbalken miteinander verbunden, so daß der mit dem Füllmaterial gefüllte Bereich nun vollständig aus dem gitterartigen Knochengewebe bestand. Drei Monate nach der Operation wurde beobachtet, daß das gitterartige Knochengewebe in Corticalknochengewebe umgewandelt war und mit dem umgebenden ursprünglichen Oberschenkelbein verwachsen war, so daß der künstlich ausgebildete Knochendefekt vollständig ausgeheilt war.

Dieses Ergebnis zeigt, daß ein Mangel an autoplastisch entnommenen Knochen durch pulverförmige Calciumphosphat-Verbindung ersetzt werden kann, welche Apatit-Kristallstruktur hat und in einen Knochendefekt eingefüllt werden kann. Auf diese Weise kann erfindungsgemäß das Ziel der Heilbehandlung innerhalb kürzerer Dauer erreicht werden.

Vergleichsbeispiel 1

Hochreines Aluminiumoxidpulver, hergestellt von der Iwatani Kagaku K.K. (Handelsname: RA-30) mit einem Gehalt an Al_2O_3 von 99,9 %, das zu 100 % ein Sieb einer Maschenweite von 149 μm passierte, wurde verwendet. Nach der gleichen Verfahrensweise wie in den vorhergehenden Beispielen wurde eine Paste aus dem Aluminiumoxidpulver hergestellt, die dann in die Knochenmarkhöhle des Oberschenkelbeins einer Gruppe von Kaninchen eingespritzt wurde. Das Fortschreiten der Bildung von neuem Knochen wurde untersucht.

Figur 4 ist eine Mikrofotografie (etwa 400-fache Vergrößerung) einer entkalkten histologischen Probe, die durch Schneiden des Oberschenkelbeins eines Kaninchens einen Monat nach der Operation erhalten wurde. Im Hinblick auf die Tatsache, daß in der Nachbarschaft der Aluminiumoxid-Teilchen keine feststellbaren Riesenzellen oder durch Fremdkörper verursachte Membranen vorhanden waren, kann geschlossen werden, daß die Teilchen gute Verträglichkeit mit dem lebenden Körper haben. Obwohl die Aluminiumoxidteilchen 1 in dem Granulationsgewebe 3 dispergiert sind, ist in ihrer Nachbarschaft kein neues Knochengewebe gebildet. Trotzdem sind einige neue gitterartige Knochen 2 in der Nähe des Corticalknochens 7 zu beobachten, von denen angenommen wird, daß sie durch die Stimulation der eingespritzten Paste gebildet wurden. Es ist jedoch ersichtlich, daß die Aluminiumoxidteilchen 8 keine osteogene Wirkung haben (nur durch gewisse Stimulation werden einige neue Knochen im Knochenmark gebildet).

Vergleichsbeispiel 2

Eine Paste wurde aus handelsüblichem organischen Knochenzementpulver (Produkt der Howmedica Co., Handelsname: Simplex"), einem Polymethylmethacrylatharz, hergestellt. Diese Paste wurde in die Knochenmarkhöhle des Oberschenkelbeins eines Kaninchens in gleicher Weise wie in den vorhergehenden Beispielen eingespritzt und die histologische Veränderung des mit der Füllung versehenen Bereiches wurde beobachtet. Figur 5 zeigt eine Mikrofotografie (in etwa 200-facher Vergrößerung) einer entkalkten histologischen Probe des mit der Injektion versehenen Bereiches nach einer Zeit von einem Monat nach dem Zeitpunkt der Operation.

Die Knochenmarkhöhle des Oberschenkelbeins mit der Knochenzementpaste ist mit Riesenzellen 9 gefüllt, die durch Fremdkörper verursacht werden, wodurch eine intensive Fremdkörperreaktion angezeigt wird. Keinerlei Bildung von neuem Knochen ist an irgendeiner Stelle zu beobachten. Es ist außerdem festzustellen, daß die Teilchen 11 des Knochenzements in dispergiertem Zustand vorliegen und daß Fett-Teilchen 10 an verschiedenen Stellen vorhanden sind.

Die vorstehend beschriebenen Beispiele der Erfindung stellen vorteilhafte Ausführungsformen dar.

Es ist jedoch klar ersichtlich, daß die Erfindung verschiedenen Modifizierungen und Änderungen unterworfen werden kann.

3038047

SCHIFF v. FÖNER STREHL SCHÜBEL-HOPF EBBINGHAUS FINCK

MARIAHILFPLATZ 2 A 3, MÜNCHEN 90
POSTADRESSE: POSTFACH 95 01 60, D-8000 MÜNCHEN 93

ALSO PROFESSIONAL REPRESENTATIVES
BEFORE THE EUROPEAN PATENT OFFICE

KARL LUDWIG SCHIFF (1904-1979)
DIPLO. CHEM. DR. ALEXANDER v. FÖNER
DIPLO. ING. PETER STREHL
DIPLO. CHEM. DR. URSULA SCHÜBEL-HOPF
DIPLO. ING. DIETER EBBINGHAUS
DR. ING. DIETER FINCK

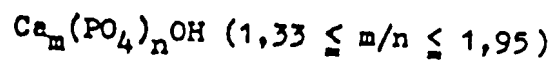
TELEFON (089) 49 90 84
TELEX 8-09988 AURO D
TELEGRAMME AUROMARCPAT MÜNCHEN

DAE - 13 461
8. Oktober 1980
MITSUBISHI MINING AND CEMENT
COMPANY, LIMITED

Fullmaterial

PATENTANSPRÜCHE

1. Fullmaterial zum Füllen von Knochendefekten oder Hohlräumen in Knochen, das zur Verwachsung mit dem Knochengewebe befähigt ist, dadurch gekennzeichnet, daß es aus einer pulverförmigen Calciumphosphatverbindung mit Apatit-Kristallstruktur der allgemeinen Formel



mit einer Korngröße der Kristalle von 50 Å bis 10 µm besteht, das in fließfähig gemachtem oder plastifizierten Zustand zur Füllung geeignet ist.

2. Fullmaterial nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Calciumphosphatverbindung mit Apatit-Kristallstruktur mit Hilfe eines Naßverfahrens synthetisiert und dann bei einer Temperatur von 500° bis 1100°C kalziniert wird.

130015/1044

3. Fullmaterial nach Anspruch 1, dadurch g e k e n n - z e i c h n e t , daß die Calciumphosphatverbindung mit Apatit-Kristallstruktur bei einer Temperatur von 1 100°C bis 1 350°C gesintert wird.
4. Fullmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch g e k e n n z e i c h n e t , daß es durch Zugabe von Wasser oder einer isotonischen Natriumchloridlösung fließfähig gemacht bzw. plastifiziert wird.
5. Fullmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch g e k e n n z e i c h n e t , daß es in granulierter Form vorliegt.
6. Fullmaterial nach Anspruch 5, dadurch g e k e n n - z e i c h n e t , daß das granuliertes Fullmaterial in Form von gesinterten Teilchen mit einem Porenanteil von 30 % oder darüber vorliegt, die durch Sintern bei einer Temperatur von 1 100 bis 1 350°C erhalten wurden.

3038047

DEA-13 461

Nummer:

30 38 047

Int. Cl.:

A 61 K 33/42

Anmeldetag:

8. Oktober 1980

Offenlegungstag:

9. April 1981

Fig. 1

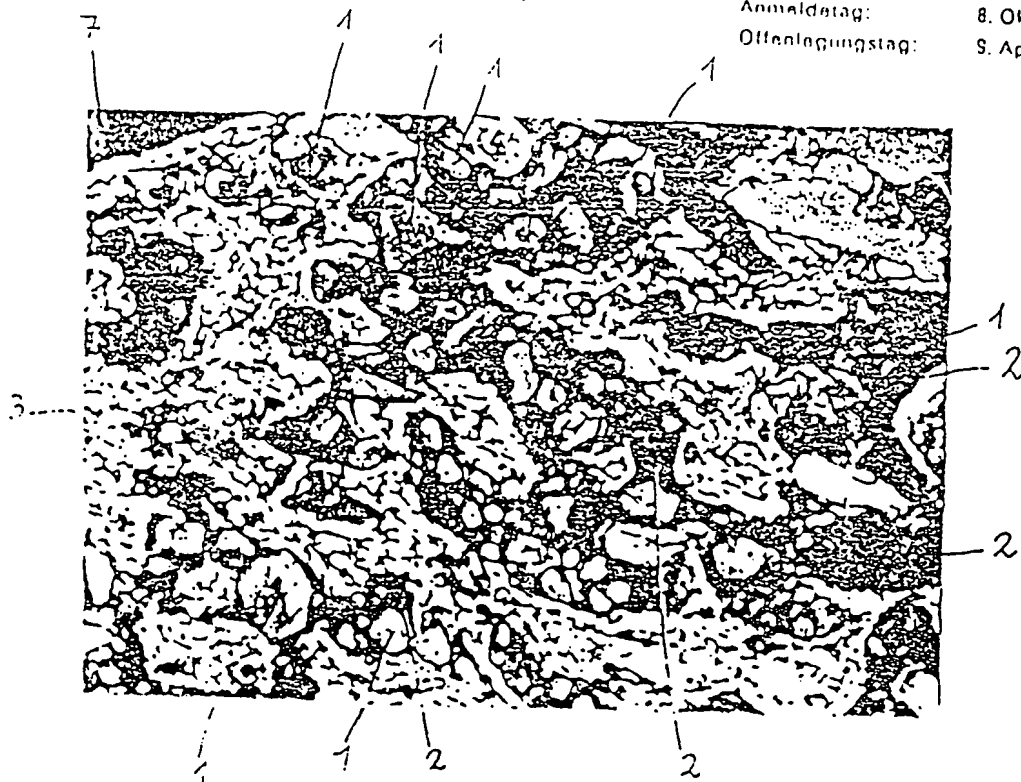
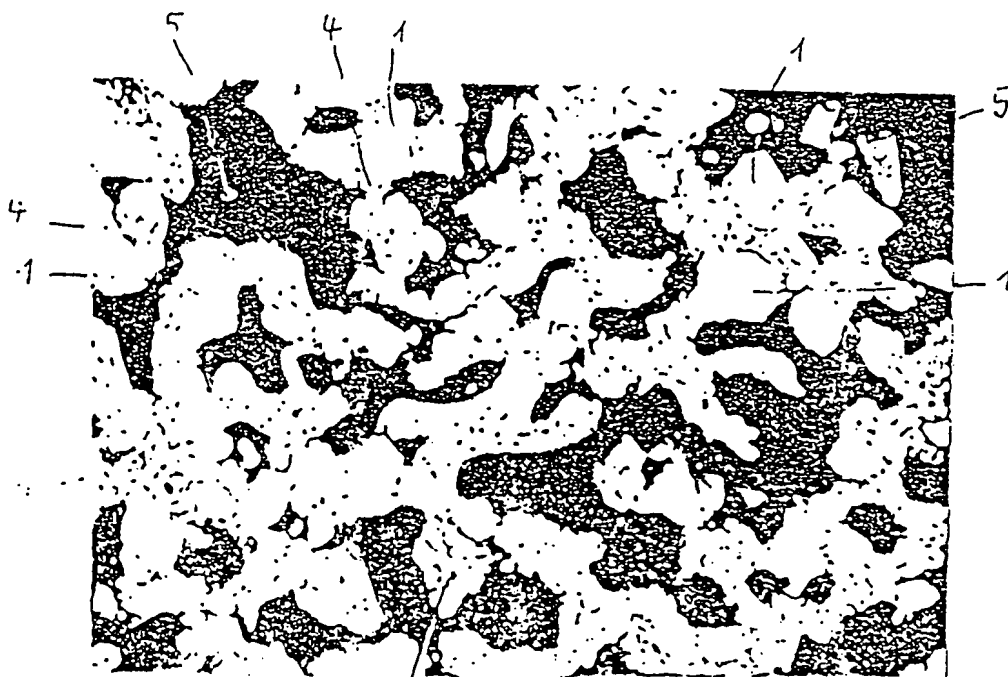


Fig. 2



130015/1044

3038047

Fig. 3

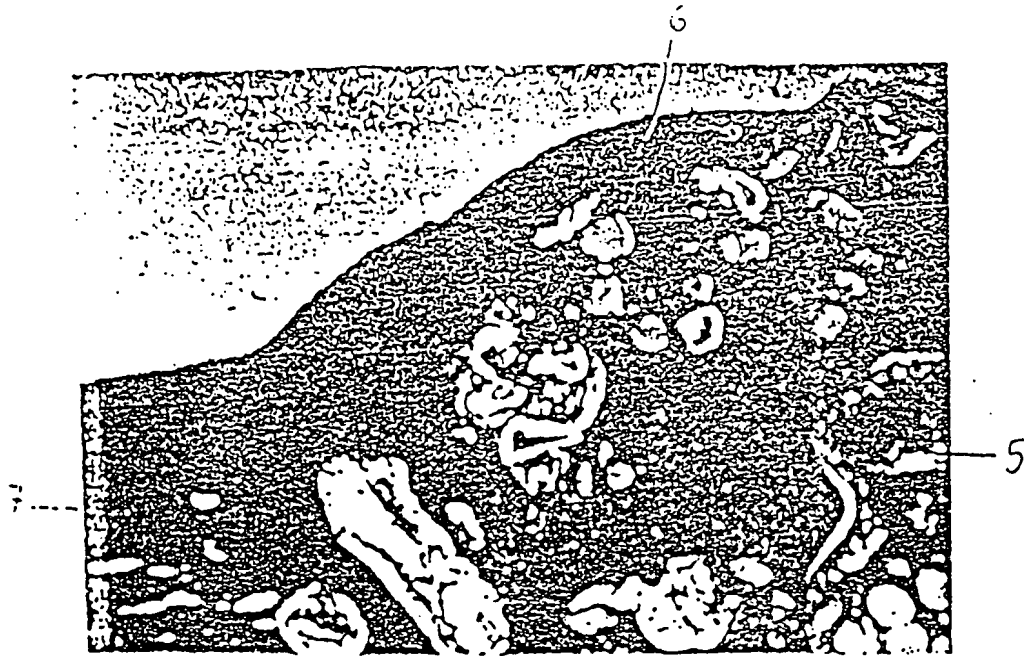
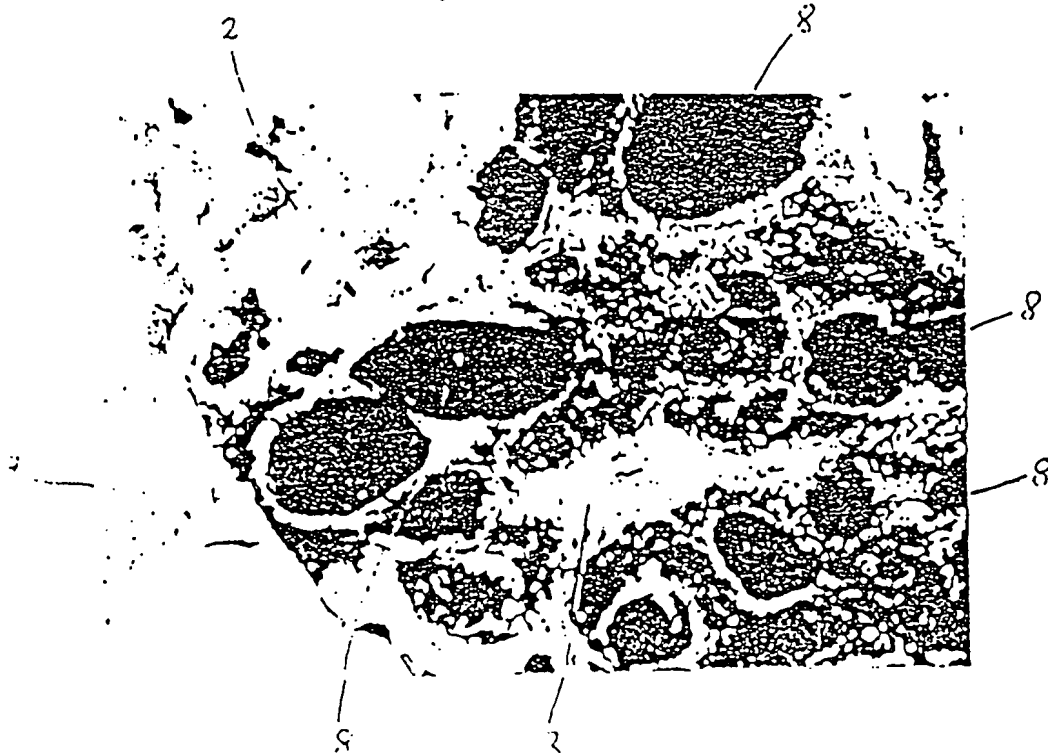


Fig. 4



130015/1044

3038047

Fig. 5

